

Clinica de pediatrie din Tg.-Mureș (cond.: prof. György Puskás)

EXAMENUL FRAȚIUNILOR GLUCO-PROTEIDICE ALE SERULUI SANGUIN LA COPIII REUMATICI

György Puskás, Olga Metz

Stabilirea precoce a diagnosticului de infecție reumatică infantilă precum și determinarea cât mai sigură a gradului de activitate, respectiv a stării de acalmie a procesului, constituie una din problemele centrale ale cercetătorilor ce se ocupă de această afecțiune frecventă. Perfecționarea metodelor de examinare a îmbogățit din ce în ce mai mult posibilitățile noastre de orientare. Astfel, în ultimii ani, a predominat interesul față de examenul electroforetic al proteinelor serului sanguin, pentru ca apoi studiul proteinelor complexe să atragă atenția asupra gluco-proteinelor.

Cu toate că scopul nostru nu e acela de a prezenta bazele teoretice ale acestei probleme, socotim totuși că e bine să relevăm câteva aspecte ce ni se par de o importanță fundamentală. Acest fapt e cu atât mai oportun cu cât în literatura pediatrică de la noi nimeni nu s-a ocupat de această problemă din punctul de vedere expus în cele ce urmează.

Importanța fiziologică a glucoproteidelor a devenit o preocupare centrală în momentul în care cunoștințele noastre referitoare la substanța fundamentală a țesutului conjunctiv, adică la fibrele colagenului inclavate în acest parenchim, au început să se îmbogățească. Glucoproteidele sînt în fond proteine complexe din a căror descompunere rezultă hidrații de carbon, respectiv derivații acestora. În general și proteinele din serul sanguin conțin hidrați de carbon, albmine într-o cantitate mai mică, iar globuline într-o măsură mai mare. În ceea ce privește clasificarea glucoproteidelor din ser, părerile sînt încă diferite. Mulți acceptă clasificarea lui Mayer, alții pe cea a lui Polonovski. În general se pot deosebi glucoproteide acide și neutre respectiv mucopolizaharide. Glucoproteidele acide conțin nu numai hexosamină ci și acizi organici, ca de ex. acid sulfo-condroitinic și acid hialuronic. Acești acizi se găsesc în substanța fundamentală a țesutului conjunctiv și de susținere. Deși cunoștințele noastre referitoare la glucoproteidele neutre se află încă într-un stadiu destul de inițial, totuși știm că aceste glucoproteide conțin acetilhexosamină, hexoză, manoză și galactoză.

Cu ajutorul examenului electroforetic se poate stabili că fiecare fracțiune de proteine conține hidrați de carbon proteinici într-o proporție mai mică sau mai mare. O mică parte dintre acești hidrați de carbon sînt legați de albmine, iar cei mai mulți de globuline. Mehl, Golden și Winzler au descompus mucoproteinele hidraților de carbon proteinici în trei fracțiuni: MP1, MP2 și MP3. În cea mai mare cantitate a fost pusă în evidență fr. MP1, care e legată de alfa 1 globulina, migrînd împreună cu aceasta în câmpul electroforetic. Polonovski și Jayle au descoperit un hidrat de carbon proteinic care intensifică proprietatea peroxidază a hemoglobinei, formînd împreună cu aceasta un complex, denumit haptoglobulină. Acest hidrat de carbon migrează în câmpul electroforetic împreună cu alfa 2 globulina. Polonovski și Jayle cred că în stările patologice înmulțirea alfa 2-globulinelor e cauzată în fond de haptoglobulină. E de remarcat însă că chiar în condiții fiziologice cantitatea de alfa

2-globuline arată oscilații destul de mari, în schimb determinarea nivelului de haptoglobuline, legate de cele dintii, ne permite să tragem concluzii mai precise în legătură cu procesele patologice.

Bergstermann, Nédel, Koiv și Grönwall au efectuat analize electroforetice pe hirtie orizontală și aplicând diferite procedee au descompus în mai multe fracțiuni glucoproteidele din serul sanguin. *Leves și Cohn* folosind tot metoda electroforezei pe hirtie au pus în evidență fracțiuni de glucoproteide legate de alfa 1-, alfa 2-, beta- și gama-globuline.

Datorită rezultatelor comunicate într-un număr din ce în ce mai mare, se știe astăzi că substanța fundamentală în care se găsesc fibrele țesutului conjunctiv conține mucoproteide acide și neutre, glucoproteide. În stările patologice și în general în procesele inflamatorii, cantitatea glucoproteidelor crește în serul sanguin. Cercetările lui *Gersch și Catchpole* arată că glucoproteidele libere rezultă în urma fluidificării substanței fundamentale, probabil sub acțiunea mucopolizaharidelor, dintre care cea mai cunoscută e hialuronidaza. Aceasta depolimerizează substanța fundamentală, făcând-o astfel solubilă în apă. În bolile colagenului, în infecții și în general în toate procesele însoțite de alterări ale țesutului, nivelul glucoproteidelor crește în țesutul conjunctiv și ca urmare a acestuia și în serul sanguin. Mulți autori susțin că faptul acesta se datorește ridicării nivelului de alfa 1 și alfa 2 globuline. Azi se acceptă că în bolile sus-menționate cauza hiperpolizaharidemie rezidă în înmulțirea seromucoidului 1 și seromucoidului 2 care sînt legate de alfa 1 și alfa 2 globuline. După cum am amintit, această din urmă se mai numește haptoglobulină, fiind în combinație echimoleculară cu hemoglobina, fapt care face posibilă determinarea ei. În țesuturi, înmulțirea mucopolizaharidelor se poate pune în evidență cu ajutorul colorației, Hotchkiss—Mc. Manus. Pentru a pune în evidență ridicarea nivelului glucoproteidelor în serul sanguin se cunosc mai multe procedee. Unii utilizează proprietatea reductivă a zaharului, alții aplică metoda colorimetrică, iar recent se folosește electroforeza pe hirtie. *Polonovski și Jayle* au atras atenția asupra faptului că e mai judicios ca în locul nivelului glucoproteidelor totale să se determine diferitele fracțiuni, deoarece efectuind această analiză putem să deducem concluzii mult mai cuprinzătoare și mai valoroase în legătură cu activitatea și vindecarea proceselor patologice. După *Montenovesi* metoda electroforezei pe hirtie e cea mai indicată, cu ajutorul ei putîndu-se pune bine în evidență ridicarea nivelului de haptoglobină legată de alfa 2-globuline. Acestei ridicări autorul îi atribuie o deosebită semnificație patognomică. *Mayer* susține că haptoglobulina e propriu-zis o mucoidă care conține galactoză, manoză și hexosamină. Ea e o glucoproteidă neutră care se colorează electiv cu reactivul Shiff, după ce se tratează cu acid periodic.

Astăzi creșterea nivelului glucoproteidelor e considerată drept expresia unei reacții de apărare specifică organismului. În procesele tisulare inflamatorii — deci și în infecțiile reumatice — al căror proces patologic evoluează în țesutul conjunctiv nivelul de glucoproteide crește, deoarece starea coloidală a glucoproteidelor care formează substanța fundamentală se modifică, acestea devenind hidrosolubile. *Benhamou, Azola* și alții au fost primii care au observat că și în infecția reumatică infantilă nivelul glucoproteidelor totale crește. *Lelong și Rthier* au constatat că nivelul ridicat de glucoproteide scade sub acțiunea ACTH-ului. Rezultă deci că din creșterea nivelului de glucoproteide se pot deduce concluzii cu privire la stadiul proceselor inflamatorii și la vindecarea produsă în urma tratamentului. Acest lucru e deosebit de important în infecția reumatică, afecțiune în care procesul poate să rămînă mult timp activ după dispariția simptomelor clinice. Se pare că această persistență se poate urmări mai cu seamă prin determinarea nivelului de glucoproteide.

La secția de reumatologie a clinicii noastre, am executat analize clinice ale sîngelui, în general utilizate pentru stabilirea activității procesului. Interpretarea comparativă

a acestora constituie obiectul unei alte comunicări. Fără a relatea amănunțit rezultatele obținute, trebuie să spunem că deși procedeele utilizate sînt foarte folositoare, totuși ele nu sînt perfecte în ceea ce privește constatarea activității și a eficacității tratamentului. De aceea am început să efectuăm determinarea fracțiunii de glucoproteide în serul sanguin, sperînd că acest procedeu ne va da o orientare mai precisă decît cele utilizate pînă acum.

Dupa cum am amintit, determinarea glucoproteidelor se face prin mai multe metode. Corespunzător metodei aplicate, valorile normale nu sînt întotdeauna identice. În vederea unei juste interpretări a rezultatelor noastre am examinat mai întii valorile glucoproteidice normale cu ajutorul aceleiași metode aplicate. Am stabilit astfel valorile normale medii la care am raportat apoi valorile obținute în boala reumatismală.

Descriem în cele ce urmează metoda aplicată :

Am folosit hirtie de filtru Whatmann 1 lungă de 17 cm, și lățea de 3 cm. Cantitatea de ser utilizat a fost de 2/100 ml. Durata electroforezei a fost în medie de 6 ore, dintre care 2 ore la o tensiune de 200 V și 4 ore la 100 V. Soluția tampon utilizată a conținut medinal și acetat de Na în apă distilată, cu un pH de 9,0. Pentru dezvoltarea spoturilor am întrebunțat procedeu de colorație PAS. Fișile uscate au fost introduse timp de 5 minute într-o soluție de acid periodic, apoi le-am spălat de trei ori într-o soluție de etanol 70%. După aceea le-am îmbibat cu o soluție reductoare timp de 3 minute, spălîndu-le apoi din nou în soluție de etanol. În continuare, fișile au fost colorate timp de 40 de minute cu o soluție de sulfid de lujină, după care le-am spălat de mai multe ori într-o soluție de etanol 70% și le-am clătit de trei ori într-un lichid de spălare sulfitic. În sfîrșit, le-am deshidratat cu etanol 96% și le-am uscat la temperatura camerei. Suprafața curbelor au evaluat-o prin metoda planimetrică.

Aplicînd această metodă am obținut următoarele valori normale medii :

Albumină: 18—20%; alfa 1-globulină: 12—14%; alfa 2-globulină: 26—28%; beta-globulină: 24—25%; gama-globulină: 8—12%. (În toate cazurile înțelegem fracțiune glucoproteidică legată de fracțiunile proteice din sînge).

Tabelul de mai jos cuprinde cele mai caracteristice rezultate obținute în cursul examenelor efectuate la aproape 100 de bolnavi, deci rezultate care permit să tragem anumite concluzii generale.

Tabel

Numele bolnavului	Numarul zilelor trecute de la debutul bolii	VSH	Fracțiuni glucoproteidice	Tratament
N. A. 11 a.	45 zile	17/39	A: 14,7% alfa 1: 18,9% alfa 2: 48,0% beta : 12,5% gama: 6,2%	Insulină de ACTH aspirină
P. P. 15. a.	43 zile	14/25	A: 17,2% alfa 1: 9,3% alfa 2: 30,0% beta : 16,4% gama: 27,1%	"
F. B. 10. a.	40 zile	18/27	A: 6,6% alfa 1: 19,9% alfa 2: 44,5% beta : 17,2% gama: 11,9%	"
K. F. 15. a.	43 zile	13/20	A: 7,0% alfa 1: 20,0% alfa 2: 42,0% beta : 15,2% gama: 15,2%	"

Numele bolnavului	Numărul zilelor trecute de la debutul bolii	VSII	Fracțiuni glucoproteidice	Tratament
T. J. 12. a.	36 zile	7/12	A: 5,7% alfa 1:12,6% alfa 2:32,4% beta :33,2% gama: 16,2%	Infuzii de ACTH aspirină
Sz. M. 15. a.	55 zile	5/15	A: 8,7% alfa 1:14,2% alfa 2:38,0% beta :11,2% gama: 28,3%	"
G. R. 11. a.	31 zile	6/16	A: 4,5% alfa 1:14,8% alfa 2:45,7% beta : 9,5% gama: 26,1%	"
K. J. 10. a.	41 zile	25/30	A: 6,3% alfa 1:19,2% alfa 2:32,0% beta :23,1% gama: 12,8%	"
K. M. 11. a.	36 zile	20/25	A: 7,4% alfa 1:14,2% alfa 2:46,3% beta :21,2% gama: 12,7%	"
L. G. 13. a.	50 zile	10/16	A: 7,9% alfa 1:10,5% alfa 2:38,0% beta :21,2% gama: 22,7%	"
D. A. 7. a.	37 zile	10/25	A:10,0% alfa 1:10,2% alfa 2:48,5% beta :19,2% gama: 11,1%	"
Zs. M. 10. a.	45 zile	16/26	A: 6,6% alfa 1: 8,7% alfa 2:38,0% beta :29,0% gama: 6,6%	"
Sz. A. 14. a.	48 zile	18/41	A: 6,4% alfa 1:29,0% alfa 2:38,0% beta :20,6% gama: 6,6%	"
D. J. 8. a.	30 zile	6/12	A: 8,4% alfa 1:10,6% alfa 2:61,0% beta :15,5% gama: 7,5%	"
K. L. 15. a.	44 zile	8/21	A: 7,8% alfa 1:24,2% alfa 2:42,5% beta 16,4% gama: 9,5%	"

Concluzii

1. Determinarea fracțiunilor glucoproteidice din serul sanguin constituie un ajutor valoros pentru stabilirea gradului de activitate al procesului reumatismal. Acest fapt are o deosebită importanță după introducerea tratamentului cu ACTH și Cortizon, care s-a dovedit mai eficace decât cele de până acum. După 30 de zile starea bolnavilor reumatici tratați cu hormoni, poate fi considerată clinic foarte bună. Deseori VSH e aproape normală, iar curba electroforezei prezintă deviații minime. În schimb, examenul fracțiunilor glucoproteidice continuă să arate în asemenea cazuri valori patologice.

2. Dintre fracțiunile glucoproteidice cea mai accentuată deviere o prezintă haptoglobina. Am observat că valorile obținute sînt mai ridicate și la primul atac, fiind însă cu mult mai pronunțate în cazurile în care e vorba de o recidivă sau de o nouă diseminare. Nivelul haptoglobinei se normalizează destul de încet. Din cercetările noastre de pînă acum rezultă că haptoglobina nu revine la normal uneori nici după 80—90 de zile. Se poate deduce așadar că procesul tisular inflamator ce persistă în asemenea cazuri reflectă mai ales modificarea nivelului haptoglobinei.

3. Am constatat de asemenea că în general modificarea nivelului fiziologic al fracțiunilor glucoproteidice semnaleză în modul cel mai sensibil agravarea survenită, indiferent din ce motive, în starea copiilor suferind de infecție reumatică. Consecințele clinice ale factorilor ce-și exercită acțiunea paraalergic nu se manifestă încă aproape de loc în momentul în care fracțiunile glucoproteidice semnaleză deja o exacerbare, respectiv o reactivare a procesului. Deși nu am ajuns încă în această privință la concluzii definitive, am observat totuși că modificarea nivelului uneori al fracțiunilor alfa 1 și mai rar al fracțiunilor beta a semnalat starea bolnavului, ceea ce ne-a determinat să indicăm un tratament în funcție de aceasta.

4. E indiscutabil deci că, în stabilirea activității noastre medicale hotărîtoare într-o măsură așa de mare, în ce privește soarta copiilor reumatici, trebuie să utilizăm și acest examen biochimic al singelui care s-a dovedit destul de sensibil, cu atît mai mult cu cît și medicii cu o îndelungată experiență clinică sînt adesea influențați de rezuliatul negativ al examenului clinic și de starea subiectivă bună a bolnavului.

Sosit la redacție: 7 octombrie 1959.

Bibliografie.

1. SHOKOLNIKOVA S. I.: *Pediatria* 2 (1959); 2. SLEPZOV A. P.: *Pediatria* 4 (1959); 3. A. N. KUYATOVSKAYA, Z. I. EDELMAN: *Pediatria* 8 (1959); 4. G. D. ZALESKI: *Sovietskaia Medicina* 1 (1959); 5. SPERANSKI G. N.: *Pediatria* 1 (1959); 6. A. I. STRUKOV: *Sovietskaia Medicina* 9 (1958); 7. ROANOVA A. M. A.: *Pediatria* 7 (1958); 8. PUSKAS: *Revista Medicală* 3 (1959); 9. INDIG, PUSKAS: *Revista Medicală* 1 (1959); 10. ELIAS: *Pediatria* 4 (1958); 11. STANESCU: *Pediatria* 4 (1958); 11. POLOVSKI: *Biochimie clinique* 1957; 12. JAYLE, BOUSSIER: *Expos. an. de Biochim. Med.* 1955; 13. MONTENOVESI: *La Presse Med.* 73 (1955); 14. G. DELMON: *La Presse Med.* 31 (1956); 15. G. BISERTE, A. BRETON: *Archiv. für Ped.* 6 (1958); 16. BENHAMOU: *La Presse Med.* 6 (1954); 17. RAYMOND: *Sem. des Hopit.* (1954).

ИССЛЕДОВАНИЕ ГЛЮКОПРОТЕИДОВОЙ ФРАКЦИИ СЫВОРОТКИ КРОВИ У ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ РЕВМАТИЗМОМ

Пушкаш Дьёрдь, Мец Ольга

Авторы исследовали глюкопротеидовую фракцию сыворотки крови почти у 100 детей, больных ревматизмом. Для определения использовали метод бумажного электрофореза, а количественный анализ был проведен электрофотометрическим путем.

Определили, что уровень альфа-2 глюкопротеида выражен не только в остром

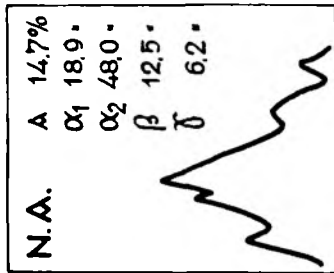


Fig. Nr. 1.

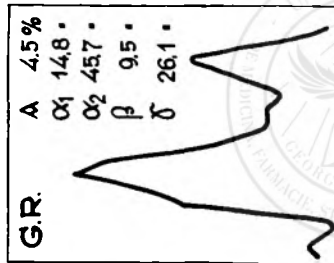


Fig. Nr. 2.

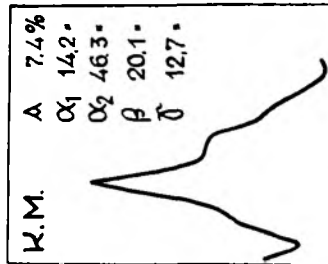


Fig. Nr. 3.

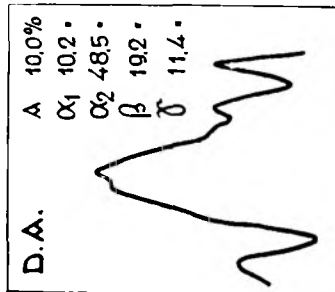


Fig. Nr. 4.

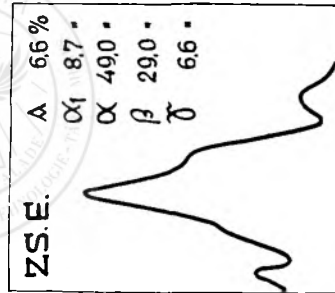


Fig. Nr. 5.

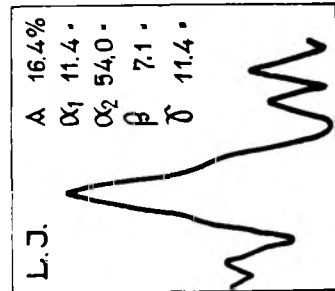


Fig. Nr. 6.

периоде болезни, но и у больных, клинически кажущихся здоровыми, когда уже обычная кривая электрофореза отклонения не показывает.

Уровень альфа-2 гликопротеида возвращается к физиологической норме медленно, поэтому химическое заключение крови важно для определения активности.

Они ценят это исследование и при гормонотерапии, когда дают указание для продолжения и повторения лечения.

RECHERCHES CONCERNANT LES FRACTIONS DES GLUCOPROTEIDES DU SÉRUM CHEZ LES ENFANTS SOUFFRANT D'INFECTION RHUMATISMALE

Gy. Puskás, O. Metz

Les auteurs relatent les résultats de leurs recherches concernant les fractions des glucoprotéides du sérum, effectuées chez presque 100 enfants souffrant de rhumatisme. Les déterminations ont été exécutées par la méthode de l'électrophorèse sur papier et les déterminations quantitatives à l'aide de l'électrophotomètre. On a constaté que le niveau des alfa 2 glucoprotéides présente une élévation très marquée dans la majorité des cas, non seulement dans les processus rhumathismaux aigus mais encore dans ceux qui semblent cliniquement déjà guéris, où la courbe électrophoretique habituelle n'indique que des différences minimales. Le niveau des 2 glucoprotéides revient lentement aux valeurs normales et c'est à cause de cela qu'il est particulièrement important de connaître les résultats de l'examen chimique du sang, afin qu'on puisse établir l'état de l'activité. Les auteurs relevent l'importance de cet examen, vu qu'il offre un point d'appui en ce qui concerne l'entretien, la continuation et le recommencement du traitement.